

発酵原料＝グルコースはもう古い？！

野口 拓也

2013年の夏に我が国が記録的な猛暑を経験したように、世界的な気候変動とその一因とされる石油資源の大量消費が懸念されている一方で、再生可能資源である稲わらや草本類といったリグノセルロース系バイオマス（以下、LB）からのバイオ燃料生産が研究されている。LBはセルロース繊維とヘミセルロース繊維によって複雑で強固な構造を形成している。一般的にLBは物理的あるいは化学的に前処理された後、酵素による糖化处理が行われる。ヘミセルロースと比較して糖化されにくいセルロースには、セルロースをセロオリゴ糖に分解するエンドグルカナーゼ、セロオリゴ糖をセロビオースに分解するセロビオヒドラーゼ、セロビオースからグルコースを生成するβ-グルコシダーゼといった糖化酵素（以下、セルラーゼ）が用いられる。最終的に、LBを完全に糖化すると、グルコースやキシロースを含む混合糖が得られる。

植物育種学では、より多くのグルコースを得ることを目指して、育種作物が創成されている。具体的には、セロビオヒドラーゼをイネに過剰発現させ、収穫した稲わらを糖化处理した結果、得られたグルコース量はコントロールと比較して1.5倍に増加し、糖化効率が上昇した¹⁾。また、ヘミセルロースの一種であるアラビノキシランを分解するアラビノフラノシダーゼをイネで過剰発現させた結果、驚くべきことに、ヘミセルロース成分が20%減少するとともに、セルロース含量が約30%向上した。これは、イネがヘミセルロースの減少をセルロース成分の増加（特に葉脈周辺の組織）で補ったためであり、結果としてイネの生育に影響を及ぼすことなく糖化効率の良いイネの作出に成功した²⁾。しかしながら、グルコースは実際の酵素糖化プロセスにおいて、前述したセルラーゼ活性の阻害因子として作用することが知られている。さらに、微生物による発酵プロセスでは、カーボンカタボライト抑制（CCR）が混合糖利用の障壁となっている。CCRとは、LBを加水分解した混合糖中に含まれるグルコースがキシロースを始めとする他の糖の分解を抑制する現象を指す。このような問題を考慮すると、グルコースのみを発酵原料とすることはLBからのバイオ燃料生産プロセス全体から見て必ずしも有効とは言えないのではないか？という考え方も出始めている。

そこで、発酵工学分野では近年CCRの回避を目的として、細胞外グルコース濃度を高くしないようにグルコースの二糖であるセロビオースを用いた研究が報告されている。Haらは、キシロース資化能を付与した*Saccharomyces cerevisiae*にセロビオースを取り込むcellodextrin transporterとβ-グルコシダーゼを共発現させ、菌体内に取り込んだセロビオースをグルコースに変換させ、セロビオースとキシロースを同時に消費するエ

タノール発酵に成功した³⁾。また、エタノールと比較して高発熱性、低蒸気圧性、非吸湿性といった優れた燃料特性を有するブタノールを生産する*Clostridium*属細菌によるアセトン-ブタノール-エタノール（ABE）発酵では、セロビオースとキシロースの混合糖からCCRを回避したブタノール生産に世界で初めて野生株で達成した⁴⁾。セロビオースの利用は、現行の酵素糖化プロセス（セルロース→セロオリゴ糖→セロビオース→グルコース）において、①グルコース生成ステップの省略、②ステップ省略によるコスト低減、③グルコースによるセルラーゼ活性阻害の回避、を一挙に実現できる可能性を持っている。また、β-グルコシダーゼ遺伝子を欠損させた*Neurospora crassa*のセルラーゼ発現株を用いた研究では、セロビオース存在下でβ-グルコシダーゼを除くセルラーゼ遺伝子の発現が活性化され、Avicel（結晶性セルロース）からの加水分解物には主としてセロビオースが得られることが明らかとなっている⁵⁾。したがって、前処理したLBに対しこのような「β-グルコシダーゼフリー」なセルラーゼを用いれば、LBからのセロビオース生成が実現可能である。

以上のように、植物育種学ではグルコース生成をターゲットとしているのに対し、発酵工学ではLBの糖化处理により得られた混合糖の効率的利用のためにセロビオースの利用がターゲットとされており、両者の間で、原料に「ズレ」が生じつつある。これを解消するには両者間での綿密かつ積極的な情報共有や意見交換が必要である。すなわち、植物育種学分野から提示（フィードフォワード）された育種作物や前処理、糖化条件を基に発酵工学分野がその条件の適性と発酵条件を検討し、得られたデータを植物育種学分野に還元（フィードバック）する。そして、両分野の意見を集約し、育種作物のデザインおよび前処理、糖化条件、発酵条件の改良・最適化を行う。広島で開催された第65回生物工学会大会では「植物育種研究と発酵工学研究とのコラボレーション」と題したシンポジウムが開催され、発酵工学研究者、植物育種学研究者による講演が行われ、多くの参加者が議論を交わした。このような学際的連携がLBからのバイオ燃料生産プロセスの全体像の理解を促し、新たなブレイクスルーにつながると考えられる。

- 1) Nigirikawa, M. *et al.*: *Rice*, **5**, 14 (2012).
- 2) Sumiyoshi, M. *et al.*: *PLoS One*, **8**, e78269 (2013).
- 3) Ha, S. J. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 504 (2011).
- 4) Noguchi, T. *et al.*: *J. Biosci. Bioeng.*, **116**, 716 (2013).
- 5) Znameroski, E. A. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 6012 (2012).